

Срочно исправить опечатки и позвонить  
в редакцию +7 (499) 135 13 11

PACS

# Мюллер-матричное картографирование оптически анизотропных флуорофоров биологических тканей в диагностике рака

Ю.А.Ушенко, М.И.Сидор, Г.Б.Боднар, Г.Д.Коваль

*Представлены результаты исследования поляризационных проявлений лазерной автофлуоресценции оптически анизотропных структур биологических тканей. Предложена мюллер-матричная модель описания их комплексной анизотропии (линейное и циркулярное двулучепреломление, линейный и циркулярный дихроизм). Определены взаимосвязи между механизмами оптической анизотропии и поляризационными проявлениями лазерной автофлуоресценции гистологических срезов биопсии ткани прямой кишки в различных спектральных областях. Найдены диапазоны изменения статистических моментов 1-го – 4-го порядков, которые описывают распределения азимутально-стабильных элементов матриц Мюллера автофлуоресценции ткани прямой кишки. Определена информативность метода лазерной автофлуоресцентной поляриметрии и впервые реализована дифференциация гистологических срезов биопсии доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) опухолей стенки прямой кишки.*

**Ключевые слова:** автофлуоресценция, поляризация, двулучепреломление, оптическая анизотропия, матрица Мюллера, статистические моменты, диагностика.

## 1. Введение

Биологические ткани представляют собой структурно неоднородные оптически анизотропные поглощающие среды. Для описания взаимодействия поляризованного света с такими сложными системами необходимы наиболее общие приближения, основанные на использовании мюллер-матричного формализма. В настоящее время в биологических и медицинских исследованиях используется множество практических методик, базирующихся на измерении и анализе матриц Мюллера исследуемых образцов [1–10].

За последние 10–15 лет в матричной оптике сформировалось самостоятельное направление – лазерная поляриметрия [11]. С ее помощью определены диагностические взаимосвязи между набором статистических моментов 1-го–4-го порядков [11, 12], которые характеризуют распределения элементов матрицы Мюллера, и линейным двулучепреломлением биологических тканей человека. На этой основе реализована диагностика рака дермы кожи, эпителиальной и соединительной ткани органов женской репродуктивной сферы и др. [11–13]. Основным недостатком данного диагностического направления является невысокая точность, обусловленная азимутальной зависимостью большинства элементов матрицы Мюллера.

Параллельно интенсивно развиваются альтернативные спектральные методы, основанные на диагностическом использовании эффектов флуоресценции белковых

молекул и их комплексов. Получены обнадеживающие по чувствительности результаты в области диагностики рака органов человека [14–20]. Однако данная оптическая технология остается недостаточно точной (специфичной) с точки зрения дифференциации доброкачественных и злокачественных состояний биологических тканей. Поскольку публикации, посвященные использованию мюллер-матричного формализма для анализа флуоресценции ансамблей оптически активных белковых молекул и их комплексов, малочисленны [21, 22], перспективным оказывается развитие мюллер-матричной модели на более общий случай – флуоресценцию двулучепреломляющих сетей оптически активных комплексов биологических тканей и на разработку на этой основе метода спектрально-селективной автофлуоресцентной поляриметрии. Настоящая работа направлена на реализацию этих задач для дифференциации доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) опухолей ткани прямой кишки.

## 2. Краткая теория

В нашей работе мы ограничились рассмотрением спектрально-селективного ( $\lambda = 0.63–0.65$  мкм) случая – люминесценции оптически активных порфиринов биологической ткани в красной области спектра. Возбуждение автофлуоресценции осуществлялось лазерным излучением с длиной волны  $\lambda = 0.405$  мкм, совпадающей с максимумом поглощения порфиринов [23].

Формирование лазерной поляризационной флуоресценции биологических тканей основывается на следующих модельных положениях:

- 1) на механизмах оптически анизотропного поглощения (линейный и циркулярный дихроизм) [24];
- 2) на флуоресценции молекул порфирина («линейных» осцилляторов) и образованных ими жидкокристаллических сетей («эллиптических» осцилляторов) [22];

**Ю.А.Ушенко, М.И.Сидор.** Черновицкий национальный университет, Украина, 58012 Черновцы, ул. Коцюбинского, 2; e-mail: [yuriyu@gmail.com](mailto:yuriyu@gmail.com)

**Г.Б.Боднар, Г.Д.Коваль.** Буковинский государственный медицинский университет, Украина, 58000 Черновцы, Театральная пл., 3

Поступила в редакцию 14 августа 2013 г.; после доработки – 19 ноября 2013 г.

3) на механизмах фазовой анизотропии (линейное и циркулярное двулучепреломление фибриллярных сетей), модулирующих флуоресцентное излучение [24].

Указанный сценарий можно описать с использованием мюллер-матричного формализма.

**Поглощение.** Фибриллярные сети, образованные оптически активными полипептидными белковыми цепочками, характеризуются линейным дихроизмом. Оптические проявления такого механизма описывает следующая матрица Мюллера [24]:

$$\{\Psi\} = \begin{pmatrix} 1 & \varphi_{12} & \varphi_{13} & 0 \\ \varphi_{21} & \varphi_{22} & \varphi_{23} & 0 \\ \varphi_{31} & \varphi_{32} & \varphi_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \varphi_{44} \end{pmatrix}, \quad (1)$$

где

$$\begin{aligned} \varphi_{12} &= \varphi_{21} = (1 - \Delta\tau) \cos 2\rho, \\ \varphi_{13} &= \varphi_{31} = (1 - \Delta\tau) \sin 2\rho, \\ \varphi_{22} &= (1 + \Delta\tau) \cos^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau} \sin^2 2\rho, \\ \varphi_{23} &= \varphi_{32} = (1 - \Delta\tau) \sin 2\rho, \\ \varphi_{33} &= (1 + \Delta\tau) \sin^2 2\rho + 2\sqrt{\Delta\tau} \cos^2 2\rho, \\ \varphi_{44} &= 2\sqrt{\Delta\tau}; \end{aligned}$$

$\Delta\tau = \tau_x/\tau_y$ ;  $\tau_x = \tau \cos \rho$ ,  $\tau_y = \tau \sin \rho$ ;  $\tau_x$ ,  $\tau_y$  – коэффициенты поглощения линейно поляризованных ортогональных составляющих амплитуды лазерного излучения;  $\rho$  – ориентация оптической оси фибриллы в плоскости гистологического среза биологической ткани.

Наличие спиралеобразной структуры белковых молекул формирует циркулярный дихроизм, оптические проявления которого описывает матричный оператор

$$\{\Phi\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & \phi_{14} \\ 0 & \phi_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \phi_{33} & 0 \\ \phi_{41} & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (2)$$

где

$$\phi_{22} = \phi_{33} = \frac{1 - \Delta g^2}{1 + \Delta g^2}, \quad \phi_{14} = \phi_{41} = \pm \frac{2\Delta g}{1 + \Delta g^2};$$

$\Delta g = (g_{\otimes} - g_{\oplus})/(g_{\otimes} + g_{\oplus})$ ;  $g_{\otimes}$ ,  $g_{\oplus}$  – показатели поглощения лево- ( $\otimes$ ) и право- ( $\oplus$ ) циркулярно поляризованных составляющих амплитуды индуцирующего флуоресценцию лазерного излучения.

**Флуоресценция.** Поляризационные проявления флуоресценции порфиринов характеризует матрица Мюллера для ансамблей таких молекул, приведенная в [22]:

$$\{F\} = \begin{pmatrix} 1 & F_{12} & 0 & 0 \\ F_{21} & F_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & F_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & F_{44} \end{pmatrix}. \quad (3)$$

Здесь

$$F_{12} = F_{21} = -\frac{b \sin^2 \vartheta}{a - b \sin^2 \vartheta},$$

$$F_{22} = \frac{b(1 + \cos^2 \vartheta)}{a - b \sin^2 \vartheta},$$

$$F_{33} = \frac{2b \cos \vartheta}{a - b \sin^2 \vartheta},$$

$$F_{44} = \frac{2c \cos \vartheta}{a - b \sin^2 \vartheta};$$

$\vartheta$  – угол рассеяния;  $a$  и  $b$  – взаимосвязанные константы, определяемые для системы «линейных» осцилляторов в изотропной среде соотношениями

$$a = 0.5(1 + \langle \cos^2 \varepsilon \rangle), \quad (4)$$

$$b = 0.25(3\langle \cos^2 \varepsilon \rangle - 1), \quad (5)$$

где  $\varepsilon$  – угол между излучением диполя и азимутом поляризации освещающего пучка. В [25] определены два предельных значения  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle$ :  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle = 3/5$  для системы коллинеарных диполей и  $\langle \cos^2 \varepsilon \rangle = 1/3$  для системы случайно ориентированных диполей.

Параметр  $c$  связан с оптической активностью молекул [25]. Здесь излучение ансамблей (жидкокристаллических цепей) оптически активных молекул рассматривается как совокупность «эллиптических осцилляторов». В предельном случае указанный параметр  $c$  достигает 5/16.

**Фазовая модуляция флуоресценции порфиринов.** Сформированное механизмами поглощения (соотношения (1), (2)) флуоресцентное излучение линейных и эллиптических осцилляторов (соотношения (3)–(5)) распространяется в объеме оптически анизотропной биологической ткани. В результате происходит фазовая модуляция такого излучения, основными механизмами которой являются оптическая активность аминокислот и образованных ими полипептидных цепей  $\{\Omega\}$ , а также двулучепреломление протеиновых фибриллярных сетей  $\{D\}$  [24]:

$$\{\Omega\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \omega_{22} & \omega_{23} & 0 \\ 0 & \omega_{32} & \omega_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (6)$$

$$\{D\} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & d_{22} & d_{23} & d_{24} \\ 0 & d_{32} & d_{33} & d_{34} \\ 0 & d_{42} & d_{43} & d_{44} \end{pmatrix}. \quad (7)$$

Здесь

$$\omega_{22} = \omega_{33} = \cos 2\gamma,$$

$$\omega_{23} = -\omega_{32} = \sin 2\gamma;$$

$$d_{22} = \cos^2 2\rho + \sin^2 2\rho \cos \delta,$$

$$d_{23} = d_{32} \cos 2\rho \sin 2\rho (1 - \cos \delta),$$

$$d_{33} = \sin^2 2\rho + \cos^2 2\rho \cos \delta,$$

$$d_{24} = -d_{42} = \sin 2\rho \sin \delta,$$

$$d_{34} = -d_{43} = \cos 2\rho \sin \delta,$$

$$d_{44} = \cos \delta;$$

$\gamma$  – угол поворота плоскости поляризации флуоресцентного излучения;  $\delta$  – фазовый сдвиг между линейно поляризованными ортогональными компонентами амплитуды флуоресцентного излучения.

Учитывая все рассмотренные механизмы оптически анизотропного поглощения лазерного излучения и фазовой модуляции флуоресцентного излучения порфиринов, результирующую матрицу флуоресценции биологической ткани можно записать следующим образом:

$$\{M\} = \{D\}\{\Omega\}\{F\}\{\Psi\}\{\Phi\} = \begin{pmatrix} 1 & M_{12} & M_{13} & M_{14} \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}. \quad (8)$$

Анализ матрицы (8) показывает, что элементы  $M_{ik}$  характеризуют суперпозицию механизмов линейного ( $\Delta\tau$ ) и циркулярного ( $\Delta g$ ) дихроизма, а также флуоресценцию линейных ( $F_{12,21,22,23}$ ) и эллиптических ( $F_{44}$ ) осцилляторов с последующей фазовой модуляцией такого излучения оптически активными молекулами ( $\theta$ ) и двулучепреломляющими сетями ( $\delta$ ) таких молекул. При этом информационное содержание матричных элементов различно. Так, совокупность элементов  $M_{i=1;k=1,2,3,4}(F_{12})$  характеризует флуоресценцию линейных осцилляторов, возникшую за счет оптически анизотропного поглощения. Элементы  $M_{i=2,3;k=1,2,3,4}(F_{21,22,33})$  определяют фазово-модулированную ( $\delta, \theta$ ) флуоресценцию линейных осцилляторов. Наконец, элементы  $M_{i=4;k=1,2,3,4}(F_{21,22,33}, F_{44})$  несут комплексную информацию о флуоресценции линейных ( $F_{21,22,33}$ ) и эллиптических ( $F_{44}$ ) осцилляторов в оптически анизотропной среде с линейным и циркулярным двулучепреломлением.

Заметим, что практическое использование выражения (8) затруднено. Причиной этого является азимутальная зависимость большинства матричных элементов – в общем случае 12 элементов из 16 изменяются при вращении образца вокруг оси зондирования. Решить эту проблему позволяют данные исследований [7, 8]. Здесь показано, что азимутально-стабильными, не зависящими от угла  $\Theta$  поворота образца, оказываются следующие элементы матрицы  $\{M\}$ :  $M_{11}, M_{14}, M_{41}, M_{44}$ .

Таким образом, экспериментально измерив с помощью цифровой камеры координатные распределения элементов  $q \equiv \{M_{14,41}\}$  в указанном спектральном диапазоне  $\lambda = 0.63–0.65$  мкм, можно получить азимутально-стабильную информацию о флуоресценции порфиринов оптически анизотропных структур тканей органов человека.

### 3. Анализ и обсуждение экспериментальных данных

В качестве объектов исследования использовались две группы оптически тонких (геометрическая толщина  $l \approx 20$  мкм, коэффициент ослабления  $\tau \leq 0.1$ ) гистологических срезов биопсии доброкачественной (полип, группа 1 – 27 образцов) и злокачественной (аденокарцинома, группа 2 – 26 образцов) опухоли тканей прямой кишки.

Экспериментальные измерения проводились при стандартном положении стоксполяриметра [11–13] с исполь-

зованием спектрально-селективного «отсекающего» светофильтра ( $\lambda = 0.63$  мкм), размещенного перед регистрирующей изображением экспериментальных образцов цифровой камерой. Для возбуждения автофлуоресценции мы использовали твердотельный «синий» лазер мощностью  $W = 50$  мВт с длиной волны излучения  $\lambda = 0.412$  мкм. Поляризационный осветитель состоял из двух четвертьволновых пластинок и поляризатора. Изображения образцов с помощью поляризационного микрообъектива (Nikon CFI Achromat P, фокальное расстояние 30 мм, апертура 0.1, увеличение  $4\times$ ) проецировались в плоскость светочувствительной площадки CCD-камеры (The Imaging Source DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL (progressive scan); разрешение  $1280 \times 960$ , размер светочувствительной площадки  $7600 \times 6200$  мкм, чувствительность 0.05 lx, динамический диапазон 8 бит, SNR – 9 бит, отклонение фоточувствительной характеристики от линейной не более 15%). Поляризационный анализ флуоресцентных изображений образцов проводился с помощью четвертьволновой пластинки и поляризатора-анализатора. На этой основе рассчитывался массив ( $m \times n$ ) величин

$$M_{14} = S_1^{\otimes} - 0.5(S_1^0 + S_1^{90}), \quad (9)$$

$$M_{41} = 0.5(S_0^4 + S_4^{90}).$$

Здесь  $S_{i=1,4}^{0,90,\otimes}$  – параметры вектора Стокса в точках цифрового изображения гистологического среза, измеренные для серии линейно ( $0^\circ, 90^\circ$ ) и правоциркулярно ( $\otimes$ ) поляризованных зондирующих лазерных пучков.

Объективная оценка координатных распределений  $q(m \times n)$  проводилась в рамках статистического подхода: вычислялся набор  $Z_i$  статистических моментов 1-го–4-го порядков:

$$Z_1 = \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P |q|, \quad Z_2 = \sqrt{\frac{1}{P} \sum_{j=1}^P (q_j - Z_1)^2}, \quad (10)$$

$$Z_3 = \frac{1}{Z_2^3} \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P q^3, \quad Z_4 = \frac{1}{Z_2^4} \frac{1}{P} \sum_{j=1}^P q^4,$$

где  $P = m \times n$  – число пикселей CCD-камеры.

На рис.1 и 2 приведены результаты мюллер-матричного картографирования лазерной автофлуоресценции ансамблей линейных ( $M_{14}$ , рис.1) и эллиптических ( $M_{41}$ , рис.2) осцилляторов – молекул и жидкокристаллических цепей порфиринов гистологических срезов биопсии доброкачественной и злокачественной опухолей.

Анализ координатных распределений инварианта  $M_{14}$  (рис.1,а, б), который характеризует процессы преобразования циркулярно поляризованного флуоресцентного излучения в линейно поляризованное, обнаруживает смещение главного экстремума гистограммы  $N(M_{14})$  в область меньших значений ( $M_{14} \downarrow$ ) данного параметра в плоскости гистологического среза ткани аденокарциномы (рис.1,в, г). Обратная картина имеет место для распределений мюллер-матричного инварианта (рис.2,а, б), характеризующего процессы преобразования линейно поляризованного флуоресцентного излучения в циркулярно поляризованное. Для гистологического среза злокачественной опухоли характерно увеличение вероятности экстремальных значений  $M_{41} \rightarrow 1$  (рис.2,г).

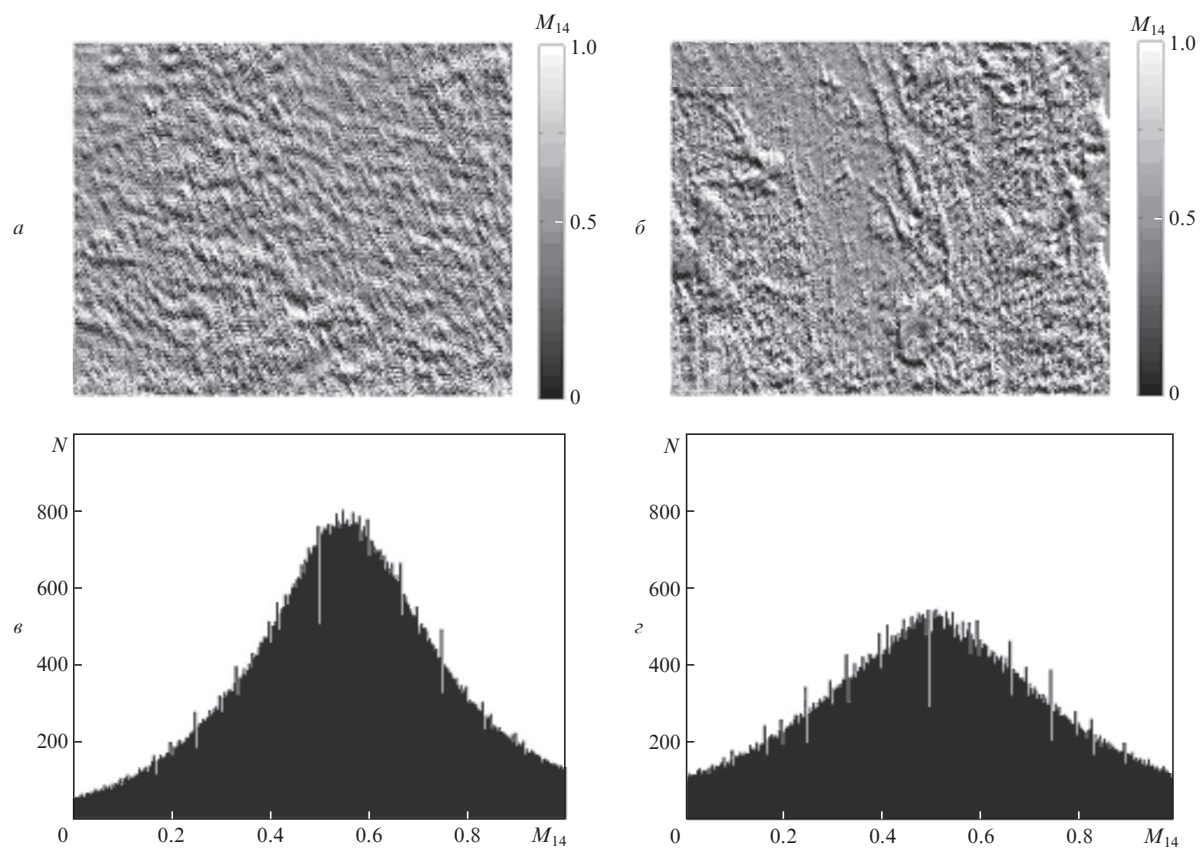


Рис.1. Координатные распределения  $M_{14}$  ( $a, б$ ) и гистограммы  $N(M_{14})$  ( $в, з$ ) гистологических срезов полипа ( $a, в$ ) и аденокарциномы ( $б, з$ ) прямой кишки.

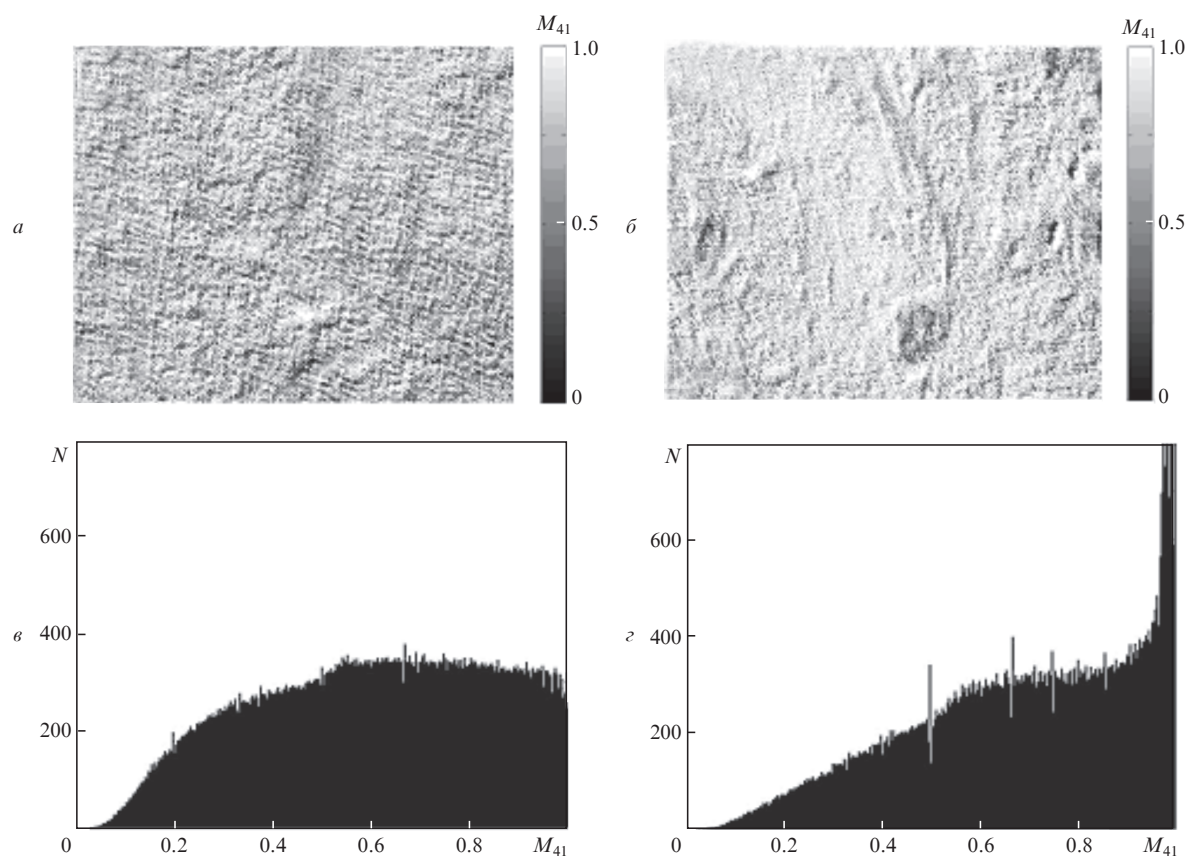


Рис.2. Координатные распределения  $M_{41}$  ( $a, б$ ) и гистограммы  $N(M_{41})$  ( $в, з$ ) гистологических срезов полипа ( $a, в$ ) и аденокарциномы ( $б, з$ ) прямой кишки.



Проанализируем полученные результаты с физической точки зрения. В рамках рассмотренной нами модели флуоресценция порфиринов характеризуется набором «линейных» ( $F_{12,21,22,33}(a,b)$ ) и «эллиптических» ( $F_{44}(c)$ ) осцилляторов. Указанные излучатели находятся в оптически анизотропной матрице с линейным (6) и циркулярным (7) двулучепреломлением. Известно [11–14], что ориентационно-фазовая ( $\delta, \theta$ ) структура такой матрицы зависит от патологии биологической ткани. Так, для злокачественных состояний характерна более разупорядоченная по направлениям ( $\Delta\rho \uparrow$ ) и двулучепреломлению ( $\Delta n \uparrow$ ) фибриллярная сеть. С другой стороны, в [23, 26–28] показано, что автофлуоресценция в красной области спектра возрастает по мере увеличения и развития опухолевого поражения. Это явление может быть связано с жидкокристаллическими сетями порфиринов, накапливающимися в тканях злокачественных новообразований на различных стадиях их развития. Поэтому злокачественные состояния сопровождаются формированием преобладающей над разупорядоченными «линейными» осцилляторами системы флуоресцентных «эллиптических» излучателей

$$a \downarrow, b \downarrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \downarrow,$$

$$c \uparrow \rightarrow F_{44}(c) \uparrow.$$

Наоборот, для предракового состояния характерно преобладание более упорядоченной системы «линейных» флуоресцентных излучателей,

$$a \uparrow, b \uparrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \uparrow,$$

$$c \downarrow \rightarrow F_{44}(c) \downarrow.$$

Вторичная фазовая модуляция флуоресцентного излучения фибриллярными сетями образцов обоих типов проявляется в противоположных изменениях мюллер-матричных инвариантов  $M_{14}$  и  $M_{41}$ . Поскольку для состояния «рак» характерно возрастание двулучепреломления ( $\Delta n \uparrow$ ) протениновых структур, то  $M_{41} \uparrow$ . Иными словами, для злокачественных новообразований реализуется следующий аналитический сценарий:

$$a \downarrow, b \downarrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \downarrow \Rightarrow M_{14} \downarrow,$$

$$c \uparrow \rightarrow F_{44}(c) \uparrow \Rightarrow M_{41} \uparrow.$$

Для ткани в состоянии дисплазии имеет место обратная картина:

$$a \uparrow, b \uparrow \rightarrow F_{12,21,22,33}(a,b) \uparrow \Rightarrow M_{14} \uparrow,$$

$$c \downarrow \rightarrow F_{44}(c) \downarrow \Rightarrow M_{41} \downarrow.$$

Для выявления возможности клинического использования методики лазерной флуоресцентной поляриметрии проводились ее сравнительные испытания с методом прямого мюллер-матричного картографирования. С этой целью в пределах двух статистически достоверных групп (доверительный интервал  $p < 0.001$ ) образцов определялись:

1) усредненные величины и стандартные отклонения статистических моментов  $Z_{i=1,2,3,4}(q)$  (табл. 1 и 3);

2) традиционные для доказательной медицины операционные характеристики – чувствительность ( $Se = [a/(a + b)] \times 100\%$ ), специфичность ( $Sp = [c/(c + d)] \times 100\%$  и точность ( $Ac = (Se + Sp)/2$ ), где  $a$  и  $b$  – количество правильных и неправильных диагнозов в пределах группы 1;  $c$  и  $d$  – то же в пределах группы 2 (табл. 2 и 4).

Анализ приведенных данных обнаруживает наивысшую чувствительность статистических моментов 3-го и 4-го порядков, характеризующих распределения  $M_{41}(m \times n)$ , к типу патологии ткани прямой кишки. В данном случае различия между их значениями достигают 50%. С физической точки зрения полученные результаты можно связать с большей фазовой модуляцией лазерного излучения двулучепреломляющей сетью гистологического среза аденокарциномы. Однако специфичность  $Sp$  и точность  $Ac$  метода прямого мюллер-матричного картографирования гистологических срезов полипа и аденокарциномы

Табл.1. Статистические моменты 1-го – 4-го порядков распределений мюллер-матричных инвариантов  $M_{14}$  и  $M_{41}$  (лазерная поляриметрия).

$Z_i$	$M_{14}$		$M_{41}$	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
$Z_1$	$0.11 \pm 0.018$	$0.86 \pm 0.11$	$0.14 \pm 0.024$	$0.11 \pm 0.016$
$Z_2$	$0.08 \pm 0.011$	$0.26 \pm 0.038$	$0.11 \pm 0.019$	$0.09 \pm 0.012$
$Z_3$	$0.92 \pm 0.11$	$0.61 \pm 0.078$	$0.53 \pm 0.082$	$0.79 \pm 0.13$
$Z_4$	$0.39 \pm 0.23$	$1.87 \pm 0.22$	$1.04 \pm 0.16$	$0.55 \pm 0.22$

Табл.2. Операционные характеристики методов прямого мюллер-матричного картографирования.

$Z_i$	$M_{14}$			$M_{41}$		
	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)
$Z_1$	58	52	55	64	52	53
$Z_2$	56	52	54	62	50	56
$Z_3$	62	54	58	68	60	64
$Z_4$	64	54	59	70	60	65

Табл.3. Статистические моменты 1-го – 4-го порядков распределений мюллер-матричных инвариантов  $M_{14}$  и  $M_{41}$  (лазерная автофлуоресцентная поляриметрия).

$Z_i$	$M_{14}(\lambda_f)$		$M_{41}(\lambda_f)$	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
$Z_1$	$0.63 \pm 0.088$	$0.49 \pm 0.061$	$0.68 \pm 0.096$	$0.89 \pm 0.12$
$Z_2$	$0.14 \pm 0.022$	$0.18 \pm 0.023$	$0.27 \pm 0.039$	$0.16 \pm 0.023$
$Z_3$	$0.33 \pm 0.045$	$0.21 \pm 0.032$	$0.81 \pm 0.12$	$1.69 \pm 0.19$
$Z_4$	$0.49 \pm 0.057$	$0.28 \pm 0.035$	$0.67 \pm 0.11$	$1.95 \pm 0.26$

Табл.4. Операционные характеристики метода мюллер-матричного флуоресцентного картографирования.

$Z_i$	$M_{14}(\lambda_f)$			$M_{41}(\lambda_f)$		
	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)	Se (%)	Sp (%)	Ac (%)
$Z_1$	66	58	62	68	60	64
$Z_2$	68	54	61	72	62	67
$Z_3$	74	66	70	92	78	85
$Z_4$	82	70	76	94	82	88

оказываются недостаточно высокими – не превышают 60%–65% (табл.2).

Для статистических моментов  $Z_{i=1,2,3,4}(q)$ , которые характеризуют распределения  $M_{14}(\lambda_f)$  и  $M_{41}(\lambda_f)$ , установлены следующие диапазоны межгрупповых различий:

$$M_{14}(\lambda_f): \Delta Z_1 \leftrightarrow 1.28, \Delta Z_2 \leftrightarrow 1.28, \Delta Z_3 \leftrightarrow 1.57, \Delta Z_4 \leftrightarrow 1.75;'$$

$$M_{41}(\lambda_f): \Delta Z_1 \leftrightarrow 1.3, \Delta Z_2 \leftrightarrow 1.69, \Delta Z_3 \leftrightarrow 2.08, \Delta Z_4 \leftrightarrow 2.91.$$

Видно, что межгрупповые различия между статистическими моментами  $Z_{i=1,2,3,4}(M_{41})$  намного больше, чем в случае использования метода прямого поляризационного картографирования. Полученные результаты можно связать с модельным анализом (соотношения (1)–(8)) флуоресценции порфиринов. Согласно рассмотренному подходу, онкологическое состояние характеризуется формированием системы флуоресцентных «эллиптических» излучателей ( $F_{44}\uparrow$ ) и ростом двулучепреломления фибриллярной сети аденокарциномы ( $M_{41}\uparrow$ ). Поэтому имеет место смещение ( $M_{41} \rightarrow 1$ ) главного экстремума гистограммы  $N(M_{41})$ . В результате этого существенно возрастают среднее ( $Z_1\uparrow$ ), асимметрия ( $Z_3\uparrow$ ) и острота пика ( $Z_4\uparrow$ ) данного распределения, а следовательно, увеличиваются диапазоны межгрупповых различий между наборами статистических моментов. Это является базисом повышения информативности метода мюллер-матричного флуоресцентного картографирования (табл.4).

Таким образом, спектрально-селективное мюллер-матричное картографирование флуоресценции порфиринов оказалось эффективным при дифференциальной диагностике доброкачественных (полип) и злокачественных (аденокарцинома) состояний ткани прямой кишки –  $M_{14}$  ( $Ac = 70\%–76\%$ ) и  $M_{41}$  ( $Ac = 85\%–88\%$ ).

#### 4. Заключение

На основе обобщенной мюллер-матричной модели флуоресценции двулучепреломляющих сетей оптически активных комплексов биологических тканей разработан метод спектрально-селективной автофлуоресцентной поляриметрии.

Определены мюллер-матричные азимутально-стабильные инварианты лазерной автофлуоресценции, характеризующие поляризационные проявления флуоресценции порфиринов на фоне линейного двулучепреломления и оптической активности протеинов биологических тканей.

В рамках статистического подхода проведено сравнительное исследование диагностических возможностей методов прямого мюллер-матричного картографирования

и лазерной автофлуоресцентной поляриметрии тканей прямой кишки с доброкачественными (полип) и злокачественными (аденокарцинома) изменениями.

Продемонстрирована клиническая эффективность статистического анализа координатных распределений мюллер-матричных инвариантов лазерной поляризационной автофлуоресценции применительно к задаче дифференциации доброкачественных и злокачественных состояний ткани прямой кишки.

1. Bueno J.M., Jaronski J. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **21**, 384 (2001).
2. Bueno J.M., Vargas-Martin F. *Appl. Opt.*, **41**, 116 (2002).
3. Bueno J.M., Campbell M.C.W. *Ophthalm. Physiol. Opt.*, **23**, 109 (2003).
4. Tower T.T. *Biophys. J.*, **81**, 2954 (2001).
5. Tower T.T., Tranquillo R.T. *Biophys. J.*, **81**, 2964 (2001).
6. Shribak M., Oldenbourg R. *Appl. Opt.*, **42**, 3009 (2003).
7. Smith M.H., Burke P., Lompad A., Tanner E., Hillman L.W. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **3991**, 210 (2000).
8. Smith M.H. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **4257**, 82 (2001).
9. Wang X., Wang L.V. *J. Biomed. Opt.*, **7**, 279 (2002).
10. Lu S., Chipman R.A. *J. Opt. Soc. Am. A*, **13**, 1106 (1996).
11. Ushenko A.G., Pishak V.P. *Handbook of Coherent-Domain Optical Methods: Biomedical Diagnostics, Environmental and Material Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boston: Kluwer Acad. Publ., 2004, Vol. 1, pp. 93–138).
12. Angelsky O.V., Pishak V.P., Ushenko A.G., Ushenko Yu.A., in *Optical Correlation Techniques and Applications*. Ed. by O.V. Angelsky (Bellingham: SPIE Press, 2007, pp. 213–266).
13. Angelsky O.V., Ushenko A.G., Ushenko Yu.A., Pishak V.P., Peresunko A.P., in *Handbook of Photonics for Biomedical Science*. Ed. by V.V.Tuchin (Boca Raton–London–New York: CRC Press, Taylor&Francis group: 2010, pp. 283–322).
14. Andersson-Engels S., Klinteberg C., Svanberg K., Svanberg S. *Phys. Med. Biol.*, **42**, 815 (1997).
15. Alfano R.R., Das B.B., Cleary J., et al. *Bull. NY Acad. Med.*, **67**, 143 (1991).
16. Anidjar M., Ettori D., Cussenot O., et al. *J. Urol.*, **156**, 1590 (1996).
17. Bohorfoush A.G. *Endoscopy*, **28**, 372 (1996).
18. Chwirot B., Jedrzejczyk W., Chwirot S., et al. *Pol. Merkuriz. Lek.*, **5**, 355 (1996).
19. Bard M., Amelink A., Skurichina M., et al. *Chest*, **129**, 995 (2006).
20. Beamis J., Ernst A., Mathur P., et al. *Lung Cancer*, **41**, 49 (2003).
21. Snindo Y., Oda Y. *Appl. Spectroscopy*, **46**, 1251 (1992).
22. Arteaga O., Nicols S., Kahr B. *Opt. Lett.*, **37**, 2835 (2012).
23. Alfano R.R., Tata D.B., Tomashefsky P., et al. *IEEE J. Quantum Electron.*, **20**, 1502 (1984).
24. Savenkov S.N., Marienko V.V., Oberemok E.A., Sydoruk O.I. *Phys. Rev. E*, **74**, 605 (2006).
25. Zellweger M. *Fluorescence Spectroscopy of Exogenous, Exogenously-induced and Endogenous Fluorophores for the Photodetection and Photodynamic Therapy of Cancer* (Lausanne: Fevrier, 2000).
26. Stroka R., Baumgartner R., Buser A. et al. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **1641**, 99 (1991).
27. D'Hallewin M., Kamuhavbra A., Roskams T., et al. *BJU Int.*, **89**, 760 (2002).
28. D'Hallewin M.A., Bezdetnaya L., Guillemin F. *Eur. Urol.*, **42**, 417 (2002).